

論文内容の要旨

論文提出者氏名 藤堂 桃子

論文題目

Ibuprofen enhances TRAIL-induced apoptosis through DR5 upregulation.

論文内容の要旨

多くの非ステロイド性解熱鎮痛薬(NSAIDs)、特にアスピリンが各種の癌細胞、特に大腸癌に対し化学予防効果を持つとして報告されている。わが国でも低用量アスピリンが大腸癌および大腸腺腫の発育を阻害することを証明する二重盲目無作為臨床試験が既に登録されている。しかし、出血という副作用の点から、我々はより安全な NSAIDs として世界中で広く使われているイブプロフェンに着目した。

イブプロフェンは G1 期停止やアポトーシスを引き起こすことが報告されているが、癌化学予防効果を有するかどうかを臨床的に研究した報告はいまだ存在しない。一方、我々のグループは癌の化学予防および治療において有望な薬剤である TRAIL (tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand)に着目し、TRAIL が誘導するアポトーシスを増強する物質を数多く発表してきた。TRAIL は TNF ファミリーに属する抗腫瘍性サイトカインであり、癌細胞に特異的にアポトーシスを誘導するが、正常細胞に対してはほとんど影響を及ぼさない。そのため TRAIL は癌治療において期待されており、実際にヒトリコンビナント TRAIL は、第 I 相および第 II 相臨床試験中である。したがって TRAIL 経路を活性化することが癌予防および治療において効果的な選択肢だと考えられる。この研究では、イブプロフェンが大腸癌細胞株 HCT-116 に対して TRAIL 誘導性のアポトーシスを著明に増強することを示した。

ヒト大腸癌細胞 HCT-116 を用いて、イブプロフェンと TRAIL を併用することによりアポトーシスが相乗的に誘導されることを、FACS 解析で sub-G1 期を測定することにより評価した。次に、イブプロフェン/TRAIL 併用によるアポトーシスのメカニズムを検討した。TRAIL の特異的受容体である DR5 の発現増強と、アポトーシス抑制因子である survivin、XIAP の発現減少を認めた。DR5/Fc キメラおよび caspase 阻害剤である zVAD-FMK による阻害実験を行ったところ、イブプロフェン/TRAIL 併用によるアポトーシスが有意に抑制された。また、caspase-3, -8, -9、Bid、PARP の切断も阻害された。この結果から、イブプロフェン/TRAIL 併用によるアポトーシスが TRAIL と受容体の結合によって引き起こされ、かつ caspase 依存性であることが確認された。更に、イブプロフェンの正常細胞への影響を確認するため、正常細胞であるヒト末梢血単核球(PBMC)を用いて検討した。イブプロフェンは大腸癌細胞に対して TRAIL によるアポトーシスを増強させるが、PBMC にはほとんど影響を及ぼさないことがわかった。

NSAIDs が各種の癌に対して化学予防効果を有することは疫学のおよび実験的に証明

されている。しかしながら、大腸癌への抗腫瘍効果の正確なメカニズムについては議論の余地がある。すでに、aspirin、sulindac sulfide や diclofenac といった各種 NSAIDs が、TRAIL 誘導性アポトーシスの感受性を増強させることが報告されているが、イブプロフェンではまだ報告がない。本論文において申請者らは、初めてイブプロフェンが TRAIL と相乗的に作用してアポトーシスを誘導することを報告した。そのメカニズムとして、イブプロフェンが TRAIL 受容体である DR5 の発現を増強させ、かつ survivin と XIAP の発現を抑制することを示した。aspirin や diclofenac が DR4 および DR5 の発現を変化させないまま TRAIL 誘導性アポトーシスの感受性を増強するのに対し、sulindac sulfide は DR5 の発現増強を介して TRAIL 誘導性アポトーシスを引き起こす。そこで、イブプロフェンの抗腫瘍作用は sulindac sulfide に類似しているとの仮説を立てた。この仮説を証明する為にはさらなる実験が必要であり、現在準備中である。

NSAIDs の大腸癌細胞に対する抗腫瘍効果には cyclooxygenase (COX)依存性の経路と非依存性の経路があると言われている。今回用いた大腸癌細胞 HCT-116 は、COX-2 および COX-1 の発現が非常に低いことが報告されている。したがって、イブプロフェンの HCT-116 に対する抗腫瘍効果は COX 非依存性の経路であると推測される。

一方、副作用の問題についても、イブプロフェンは多くの試験で OTC 薬として高い耐容性を示しており、aspirin や acetaminophen と比べても最も低い副作用出現率であったと報告されている。申請者らの実験結果ではイブプロフェンによる TRAIL 誘導性アポトーシスの増強効果は、正常細胞である PBMC においては認められなかった。したがって、イブプロフェンは大腸癌細胞に対し有望な化学予防薬剤として期待できるだろう。

近年、ヒトリコンビナント TRAIL は癌の化学予防および治療において将来性のある薬剤であると期待されている。以前に、申請者らは、ある種の乳酸菌が PBMC において TRAIL の発現を著明に誘導し、ヒト前立腺癌細胞株の PC3 に対する細胞障害活性を増強するという結果を報告している。したがって、イブプロフェンと前述の乳酸菌のような TRAIL 誘導因子の併用療法の、癌の化学予防に有益になりうるかと期待している。

結論として、申請者らは本論文において、大腸癌細胞に対するイブプロフェンの新規作用メカニズムを見出した。イブプロフェンは大腸癌細胞にアポトーシスを誘導する TRAIL 感受性増強薬剤として有効である可能性が示された。また、本研究の結果からイブプロフェンが aspirin より安全な化学予防薬剤になりうる可能性も示唆された。それゆえに申請者らは、イブプロフェンが臨床的にも安全で効果があることを確認し、大腸腺腫および大腸癌に対しての臨床試験を提案したいと考えている。